云 南 植 物 研 究　1996; **18** (3): 320～324
Acta Botanica Yunnanica

扁豆花粉发育的超微结构

叶宝兴　席湘媛
(山东农业大学植物教研室，泰安 271018)

摘要　用透射电镜对扁豆 *Dolichos lablab* L.的小孢子发生和雄配子体形成过程进行了观察。首次观察到扁豆花粉发育过程中，其质体与线粒体去分化、再分化发生于整个花粉发育过程中，并经历了两个去分化和再分化的周期。第 1 个周期去分化发生在减数分裂前期Ⅰ，再分化发生于减数分裂末期Ⅱ。第 2 个周期是在小孢子晚期的去分化和二胞花粉早期(质体)及二胞花粉晚期(线粒体)的再分化。高尔基体从游离小孢子早期到二胞花粉晚期均较丰富，并参与外壁内层及内壁的形成。二胞花粉早期的初始内壁形成了壁内突，扩大了营养细胞质膜的表面积，增强了花粉从药室内吸收养料的功能。

关键词　扁豆，花粉发育，超微结构，质体与线粒体的去分化和再分化

ULTRASTRUCTURE OF POLLEN DEVELOPMENT IN DOLICHOS LABLAB

YE Bao-Xing, XI Xiang-Yuan
(*Department of Botany, Agricultural University of Shandong*, Taian 271018)

Abstract Microsporogenesis and male gametophyte formation in *Dolichos lablab* L. were examined by using transmission electron-microscopy. It is the first time to be observed that the plastids and mitochondria have undergone two cycles of dedifferentiation and redifferentiation during the process of microsporogenesis and pollen development. In the first cycle the dedifferentiation of plastids and mitochondria occurs at prophase I of meiosis and the redifferentiation at telophase Ⅱ. The second cycle is from dedifferentiation of plastids and mitochondria at late microspore stage to redifferentiation of plastids at early 2-celled pollen stage and of mitochondria at late 2-celled pollen. From the early microspore to the late 2-celled pollen stages, the golgi bodies are abundant. They are involved in the formation of both nexine and intine of pollen. The wall ingrowths of primary intine of early 2-celled pollen enlarge the surface areas of the vegetative cell plasma membrane, and may facilitate the uptake of nutrients from the anther locule.

Key words *Dolichos lablab*, Pollen development, Ultrastructure, Dedifferentiation and redifferentiation of plastids and mitochondria

蝶形花科植物包含大量经济植物，其花粉发育的超微结构较少研究。Albertsen 等(1979)对雄性不育(ms_1)和雄性可育的大豆小孢子发生作了光镜和电镜的比较研究，张宪省等（1991）报道了矮生菜豆(*Phaseolus vuglaris*)小孢子发生的超微结构，Pérez-Munoz 等(1993)对野生豇豆(*Vigna vexillata*)花粉壁

1995-05-11 收稿，1995-10-31 修回

发育的超微结构进行了观察。本工作对扁豆(*Dolichos lablab*)小孢子发生和雄配子体形成的超微结构进行了观察，特别在细胞器变化方面，获得一些新的观察结果，现将结果报道于下。

材料和方法

扁豆种植于山东农业大学校园内。不同发育时期花蕾的花药用 4%戊二醛（磷酸缓冲液配制，pH7.2）和 1%锇酸（重蒸馏水配制）进行双固定，经系列酒精脱水，环氧丙烷过渡，包埋于 Epon-812 环氧树脂中。在 LKB-7800 型超薄切片机上用玻璃刀切片，醋酸双氧铀和柠檬酸铅双重染色，JEM-1200EX 电镜观察照相。

观察结果

间期小孢子母细胞

小孢子母细胞横切面呈方形，细胞质浓稠，有核糖体，质体、线粒体丰富，有少数液泡和一些粗糙内质网片段。质体的切面呈椭圆形、长棒形、有的中部缢缩，显然在分裂中，基质深，片层不太明显。线粒体呈椭圆形，嵴不甚明显，其体积比质体小、基质浅一些，可与质体区别。核膜、核仁均甚明显，且有微核仁。小孢子母细胞之间及小孢子母细胞与绒毡层之间均有胞间连丝(图版Ⅰ: 1)。

粗线期的小孢子母细胞

小孢子母细胞的初生壁及中层明显，在初生壁内方沉积了胼胝质壁，在初生壁上可以见到初生纹孔场及胞质通道(图版Ⅰ：2)。细胞质中小液泡增多，有些液泡内含深色嗜锇颗粒。细胞质深度比间期的浅，核糖体密度有所下降。质体近核周围似更多一些。但质体基质变浅，片层结构比上期更模糊。线粒体数目变少，多为椭圆形，比质体明显小，失去嵴，已高度退化。可见片段的粗糙内质网稀疏分布。核仁偏向核膜，染色体群分布在核膜与核仁之间。

末期Ⅱ的小孢子母细胞

小孢子母细胞边缘已内陷，胼胝质壁较厚、细胞质中小液泡显著增加，质体、线粒体多，且分布于小孢子母细胞缢裂部位的下方及胞质中其它处。质体形状发生变化，呈等径的球形，体积较以前的小，比线粒体的大，片层较上期更不明显，基质中产生电子密度深的颗粒，这种电子密度深的颗粒曾出现于百合减数分裂的小孢子母细胞(Dickinson 等，1983; Dickinson, 1981; Dickinson 等，1977)及矮生菜豆的小孢子质体中(张宪省等，1991)。Dickinson 等(1977)称之为“与膜相连系的颗粒”。线粒体嵴非常明显，球形或椭圆形，成群遍布于胞质中。细胞质中有少量脂滴(图版Ⅰ：3)。

小孢子四分体晚期

四分体外的胼胝质壁尚存在，但某些部位的已溶解。此时小孢子外壁(exine)的覆盖层、基粒棒、基足层和萌发孔已形成。萌发孔是在四分体小孢子内侧。含电子密度深的颗粒的球形质体增大，已失去片层结构，它们较集中分布于细胞质的一侧。线粒体数量增多，仍具明显的嵴，在核周围分布多一些，其直径比质体的小数倍，有些正处于缢裂中。见少量的高尔基体(图版Ⅰ：4)。核仁一侧的核仁组织区域形成微核仁。

小孢子期

小孢子早期，在细胞一侧出现一个稍大的液泡，但核仍居中。质体仍具深色颗粒，靠近液泡方向质体分布较多一些。线粒体数量很多，嵴甚发达，在核周围分布较集中，有些还在分裂（图版Ⅱ：5）。高尔基体及其小泡丰富，观察到有的线粒体与小泡相连（图版Ⅱ：6）。小孢子进一步发育，到晚期细胞核靠壁，另一侧液泡较前一时期的大，在液泡中有泡状物。见质体呈高度退化状态，基质电子密度浅，无片层结构，有些具电子密度深的颗粒，有些不具。线粒体退化不见，除核糖体外其它细胞器亦不见（图版Ⅱ：7）。小孢子时期已形成较厚的电子密度很深的外壁内层，外壁的覆盖层变厚，有微孔，基粒棒相对变

粗。

二胞花粉早期及中期

刚形成的二胞花粉包含1个与花粉壁相连的小的生殖细胞，与1个大的营养细胞。营养细胞仍有1个较大的液泡，细胞器有质体、内质网、核糖体等。此时的质体已不呈球形，多为长形或不规则长形，有的尚存在少量电子密度深的颗粒，片层结构模糊。花粉外壁内层电子密度变得很浅，外壁内层方有小泡与之相连，花粉内壁(intine)开始形成（图版Ⅱ：8）。在稍后的二胞花粉早期，营养细胞质中有丰富的质体和粗糙内质网、核糖体等细胞器，质体为长棒形或长椭圆形，有片层结构，游离的核糖体较上期增多（图版Ⅲ：9）。外壁内层电子密度比上期变深一些，此时在花粉外壁内层内方形成电子密度透明的内壁区域、呈壁内突形式，内方与之相连的质膜亦凹凸不平，内壁附近见有小泡。在花粉外壁上有脂类物质（花粉鞘）进入基粒棒之间（图版Ⅲ：9）。在二胞花粉中期，此期生殖细胞脱离花粉壁，进入营养细胞质中，营养细胞的胞基质嗜锇性增强，电子密度很深。粗糙内质网不见，核糖体是否存在，在深色的胞基质中难以确定。细胞器膜层电子透明，与胞基质成明显的反差。高尔基体及其小泡甚丰富，还有许多较大的泡，看来是由小泡所合成。质体内膜明显（图版Ⅲ：10）。

成熟花粉期

观察的材料为开花前一天取的。营养核的核膜波状，营养细胞质中有很多质体，质体内含有多个淀粉粒，线粒体很丰富，大小形状不一，嵴明显且呈同心圆形或平行排列，线粒体的基质电子密度很浅（图版Ⅲ：11），营养细胞的周边细胞质中有很多高尔基体及小泡，小泡呈管状或不规则形，有的与质膜相连。此时外壁内层电子透明，内壁厚，约为前者的3倍，电子密度较深，呈波状成层结构（图版Ⅲ：12）。生殖细胞横切面的直径约为1.75～2.5 μm，有几处延伸成为外突，生殖细胞纵切面呈长梭形，外包有两层质膜，在许多部位，尚可见到其中的小泡。生殖细胞质少，含线粒体，其结构与营养细胞相似，较长的内质网与质膜相连，未见高尔基体和质体，核瓣裂（图版Ⅲ：11）

讨　论

(1)在扁豆花粉发育过程中，质体和线粒体的形态结构及分布发生了明显的变化。小孢子母细胞粗线期，质体的片层比间期更加模糊；线粒体失去嵴并且数量减少，这是质体和线粒体去分化的形态标志。末期Ⅱ时，质体变为球形，失去片层结构，含不少电子密度深的颗粒；此时线粒体的形态结构也发生了变化，数量增多，形态变小，嵴变得非常发达且呈管状。上述形态结构的变化，标志着质体和线粒体进行了再分化。在四分体小孢子及游离小孢子早期，球形质体分布出现了极性，所含深色颗粒增多增大，数量多、嵴发达的线粒体则多分布在核周围。小孢子晚期，质体和线粒体又进行了第2次去分化；质体呈高度退化状态，而线粒体已退化不见。到二胞花粉早期，质体发生了第2次再分化，形态变为椭圆形，或长椭圆形，不含深色颗粒，具片层结构，并失去极性分布。至二胞花粉晚期（成熟花粉期），线粒体才出现，结构与以前的不同，大小悬殊，嵴呈同心圆环状，平行排列，这是线粒体第二次再分化。由此看来，扁豆质体和线粒体的变化具有以下两个特点：其一，它们的变化贯穿于小孢子发生及雄配子体形成的整个发育过程；其二，质体及线粒体的变化包含了两个去分化及再分化的周期。以上2个特点属首次观察，过去未见报道。

过去研究的一些植物，细胞器有规律的变化发生在小孢子发生过程中（王毅等，1993；张宪省等，1991；Dickinson 等 1983；Luck 等，1980；Dickinson 等，1977）。至于从小孢子至雄配子体形成过程中，细胞器是否又发生了去分化和再分化，由于未见报道，所以是个未知数。

Dickinson(1981)将小孢子发生过程中细胞器发生的变化称为“细胞质重组”，认为与孢子体向配子体世代转变有关，这些变化是消除一些孢子体信息物质，使孢子能在更新的细胞质中发育为配子体。但苏丹凤仙花(*Impatiens sultani*)小孢子发生的研究中，核糖体显著增多，分布有变化，而质体和线粒体则未发生

任何变化(van Went 等，1989)。铁兰属(*Tillandsia*；Hess，1991)及番茄(Polowick 等，1993)的小孢子发生过程中，核糖体的量保持稳定而无变化。番茄及其它一些植物雄配子体发育过程中，已知孢子体及配子体的基因均表达(Mascarenhas，1990，1989；Ursin 等，1989；Tanksley 等，1981)。扁豆的质体与线粒体的去分化、再分化不是局限于小孢子发生过程中，而是贯穿于小孢子发生及雄配子体形成的全过程中，并有两个周期，且这些变化并不与核糖体协同变化。扁豆质体和线粒体经历的第一个周期的去分化和再分化的作用，我们支持 Dickinson(1981)提出的观点，而第 2 个周期的去分化和再分化，我们推测或许是在第一个周期内的去分化过程中，一些孢子体信息物质消除不够，在第 2 个周期中，孢子体信息物质更进一步的消除，使雄配子体的形成顺利进行。另外，未能观察到扁豆花粉发育过程中细胞质内核糖体数量的显著变化，是否一些孢子体及配子体遗传信息物质的变化发生在质体及线粒体本身，亦即质体类核（质体 DNA 及线粒体类核（线粒体 DNA）的变化。这些都是值得进一步深入研究的问题。

(2)扁豆小孢子四分体晚期，形成了外壁的覆盖层、基粒棒及基足层，游离小孢子早期形成外壁内层，二胞花粉早期开始形成花粉内壁。游离小孢子早期到二胞花粉晚期，有丰富的高尔基体及其小泡存在，在二胞花粉早期，高尔基体小泡与内壁相连，说明高尔基体参与外壁内层及内壁的形成。扁豆花粉外壁与内壁形成的时间与野生豇豆(Polowick 等，1993)及番茄(Polowick 等，1993)的相同。

(3)Charazynska 等(1989)首次报道了黑麦小孢子的初始的第 1 层内壁为壁内突形式的，小孢子分裂后产生的第 2 层内壁为迷宫式的壁内突，认为黑麦的小孢子为一传递型细胞，壁内突的存在有利于小孢子及二胞花粉先后从绒毡层及药室内吸取营养及花粉与外界水分的流动及氧气的交换。扁豆二胞早期的花粉形成了壁内突形式的初始的内壁，扩大了与其紧密相连的营养细胞的质膜的表面积。此时绒毡层细胞在解体过程中，花粉已游离在药室中，因而花粉不可能从绒毡层吸收养料，但增强了从药室内吸收养料的功能。

参 考 文 献

王 毅，胡适宜；1993. 棉花小孢子发生过程中细胞质的超微结构变化：着重“细胞质改组”问题，植物学报，**35**：255～260

张宪省，席湘媛，1991，矮生菜豆小孢子发生的超微结构观察，植物学报，**33**：267～272

Albertsen M C, Palmer R G, 1979. A comparative light-and electron-microscopic study of microsporogenesis in male sterile (ms_1) and male fertile soybeans (*Glycine max* (L.) Merr.). *Amer J Bot*, **66:** 253～265

Charazynska M, Murgia M, Cresti M, 1989. Microspore of *Secale cereale* as a transfer cell type. *Protoplasma*, **158:** 26～32

Dickinson H G, 1981. Cytoplasma differentiation during microsporogenesis in hight plants. *Acta soc Bot pol*, **50:** 3～12

Dickinson H G, Heslop-Harrison JFRS,1977. Ribosomes, membrane and organelles during meiosis in angiosperms. *Phil Trans R Soc Land*, **B277:** 327～342

Dickinson H G, Willson C, 1983. The stage in the redifferentiation of amyloplasts in the microspores of *Lilium*. *Amer J Bot*, **52:** 803～810

Heslop-Harrison J, 1971. The cytoplasm and its organelles during meiosis. In: Heslop-Harrison J, ed. Pollen development and physiology. London: Butter Worths, 16～31

Hess M W, 1991, Ultrastructure of organelles during microsporogenesis in *Tillandsia pallidoflavens*. *Plant Syst Evol*, **176:** 63～74

Luck B T, Jordan E C, 1980. The mitochondria and plastids during microsporogenesis in *Hyacinthoides non-scripta* (L.) Chouard. *Amer J Bot*, **45:** 511～514

Mascarenhas J P, 1989. The male gametophyte of flowering plants. *Plant Cell*, **1:** 657～664

Mascarenhas J P, 1990. Gene activity during pollen development. *Annu Rev Plant Mol Biol*, **41:** 317～338

Pérez-Munoz C A, Jernstedt J A, Webster B D, *et al*, 1993. Pollen wall development in *Vigna vexillata*. Ⅱ. Ultrastructural studies. *Amer J Bot*, **80:** 1193～1202

Polowick F L, Sawhney V K, 1993. An ultrastructural study of pollen development in tomato (*Lycopersicon esculentum*). I. Tetrad to early binucleate microspore stage. *Can J Bot*, **71:**1039～1047

Tanksley S D, Zamir D, Rick C M,1981. Evidence for extensive overlap of sporophytic and gametophytic gene expression in Lycopersicon esculentum. *Science* (Washington DC), **213:** 454～455

Ursin VM, Yamaguchi J, McCormick S, 1989. Cametophytic and sporophytic expression of anther-specific genes in developing tomato anther. *Plant Cell*, **1:** 727～736

van Went J, Cresti M, 1988. Cytoplasmic differentiation during tetrad formation and early microsporic development in *Impatients sultani*. *Protoplasma*, **148:** 1～7

图版说明

Ap 萌发孔；B 基粒棒；Ca 胼胝质壁；Er 内质网；G 高尔基体；Gc 生殖细胞；Gn 生殖核；I 内壁；L 脂滴；M 线粒体；N 细胞核；Ne 外壁内层；P 质体；T 覆盖层；Ta 绒毡层；V 液泡；Vn 营养核。

图版Ⅰ 1. 间期小孢子母细胞，示小孢子母细胞之间（箭号）和小孢子母细胞与绒毡层之间（箭头）的胞间连丝。×6000；2. 粗线期的小孢子母细胞，示初生纹孔场（箭号）和胞质通道（双箭号）。×6000；插入图示去分化的线粒体。×1200; 3. 减数分裂末期Ⅱ的小孢子母细胞。小孢子母细胞质膜逐渐向心内折（箭号）。×4500；4. 小孢子四分体晚期，某些线粒体正处于分裂中。×3000

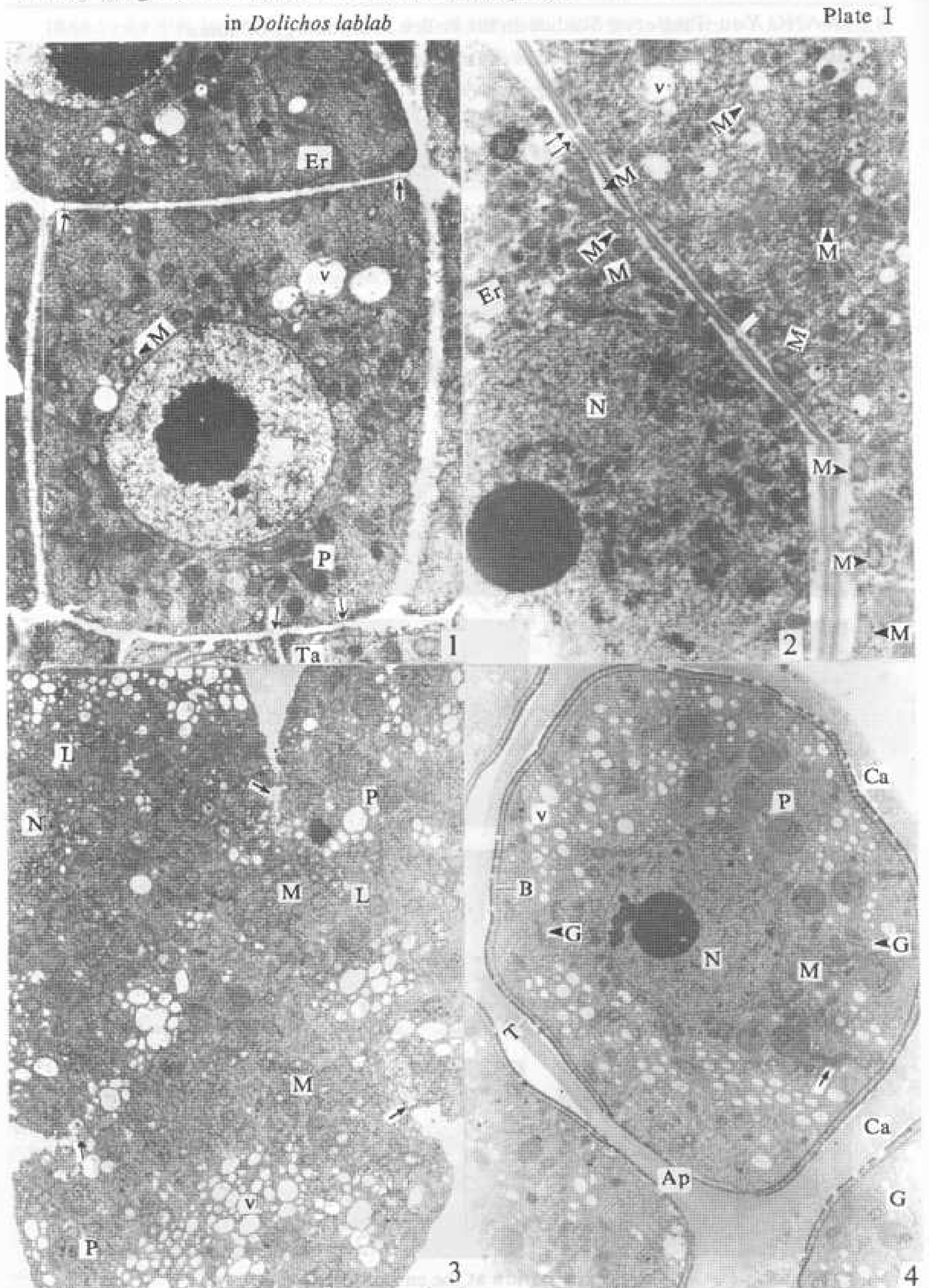
图版Ⅱ 5,6. 早期的小孢子。箭头示高尔基体分泌的小泡，箭头示与线粒体相连的小泡。5. ×3000，6. ×25000；7. 晚期的小孢子。×300; 8. 早期的二胞花粉。生殖细胞刚形成（箭号），内壁开始形成。×3000

图版Ⅲ 9. 二胞花粉早期的营养细胞和花粉壁，箭头示内壁附近的小泡，箭号示花粉鞘。×11000；10. 二胞花粉中期的营养细胞和花粉壁。小泡（箭号）移向发育中的内壁。×900；11. 成熟花粉的生殖细胞和部分营养细胞。×900；12. 成熟花粉的花粉壁和部分营养细胞。箭头示高尔期体小泡。×1800

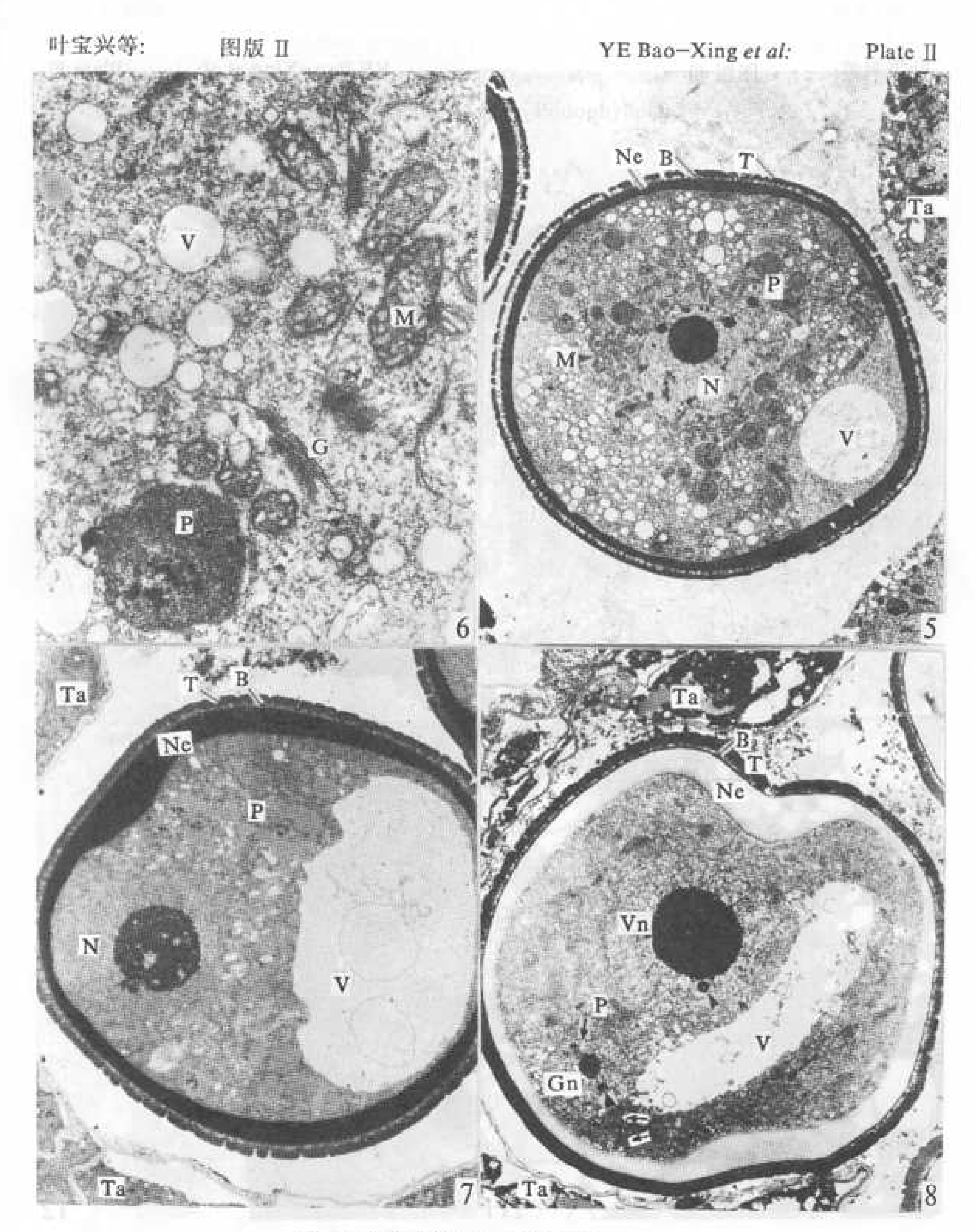
Explanation of Plates

Ap:Aperture; B:Baculum; Ca: Callose wall; Er:endoplasmic reticulum; G:Golgi body; Gc:Generative cell; Gn:Generative nucleus; I:Intine; L:Lipid drop; M:Mitochondrium; N:Nucleus; Ne:Nexine; P:Plastid; T:Tectum; Ta:Tapetum; V:Vacuole; Vn:vegetative nucleus.

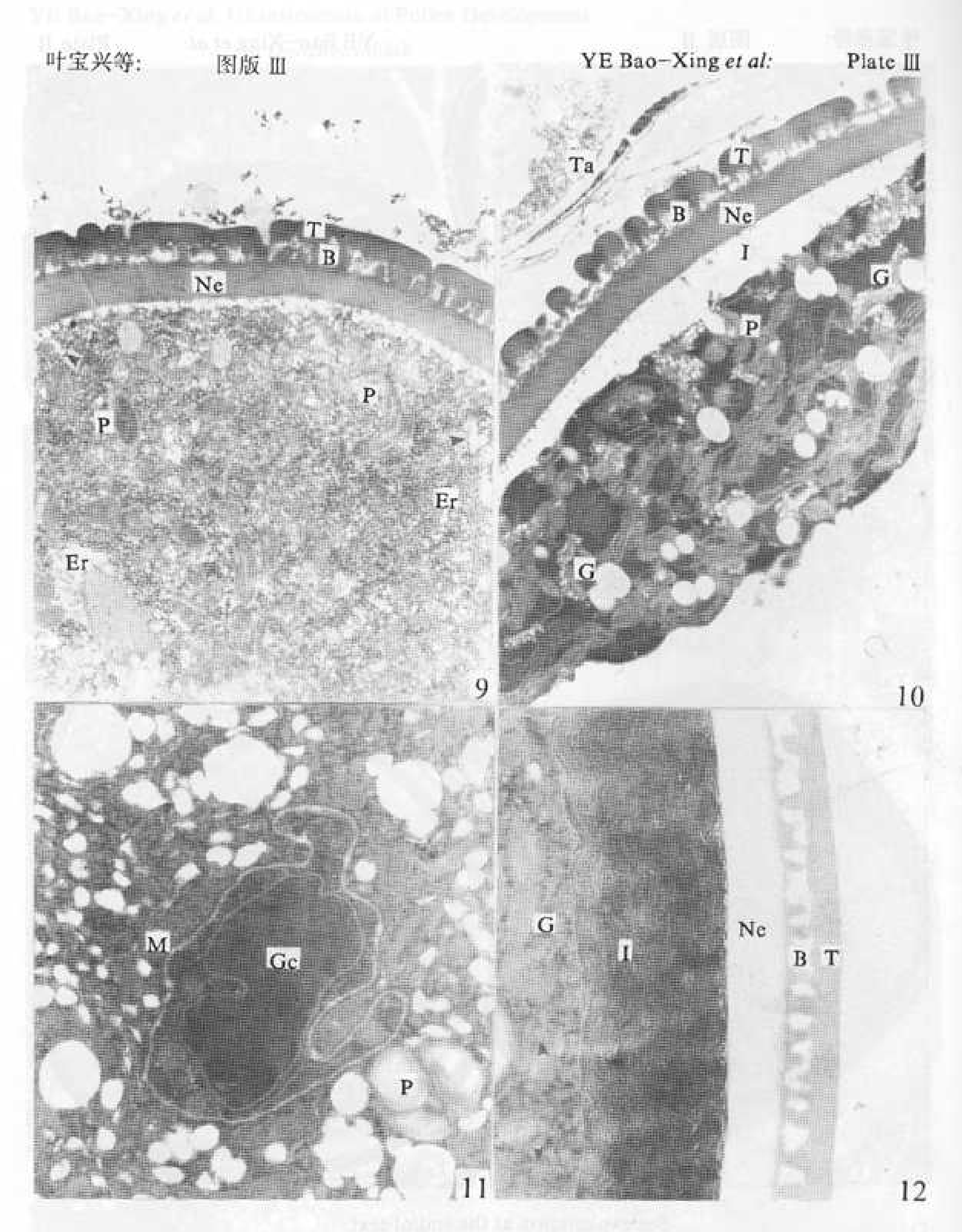
Plate Ⅰ 1. Microsporocyte at interphase, showing plasmodesmata (arrows) both between microsporocytes and between microsporocyte and tapetal cell, and micronucleolus (arrowhead). ×6000; 2. Microsporocyte at pachytene, showing primary pit field (arrow) and cytomictic channels (double-arrow). ×6000; the insertion shows the dedifferentiating mitochondria. ×10000; 3. Microsporocyte at telophase Ⅱ of meiosis. The plasma membrane of microsporocyte grows inwards gradually and centripetally (arrows). ×4500; 4. Late microsporic tetrad. Some mitochondria (arrow) are in division. ×3000. **Plate Ⅱ** 5,6. Early microspore, showing vesicles (arrowheads) secreted by golgi bodies and a vesicle (aroow) connecting with a mitochondrium. 5. ×3000, 6. ×25000; 7. Late microspore. ×3000; 8. Early 2-celled pollen. Generative cell (arrows)has just formed while intine begins to be formed. ×3000. **Plate Ⅲ** 9. Vegetative cell and pollen wall of early 2-celled pollen, showing wall ingrowths of intine, vesicles (arrowheads) near intine and pollenkitt (arrows) . ×11000; 10. Vegetative cell and pollen wall of middle stage of 2-celled pollen. Some vesicles (arrows) are moving to the developing intine. ×9000; 11. Generative cell and portion of vegetative cell of mature pollen. ×9000; 11. Generative cell and portion of vegetative cell of mature pollen. ×9000; 12. Pollen wall and portion of vegetative cell of mature pollen, showing golgi body vesicles (arrowheads). ×18000



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text



See explanation at the end of text